

# Weitere Beiträge zur Theorie der Harnstoffbildung. Das Verhalten des Glycocoll etc. im Organismus.

Von E. Salkowski.

(Aus dem chemischen Laboratorium des patholog. Instituts in Berlin.)  
(Der Redaktion zugegangen am 2. Dezember.)

## Erster Theil.

Die Fähigkeit des Organismus der Säugethiere, Eiweiss, welches vom Darmkanal aus in die Säftemasse gelangt, ja selbst direkt in die Blutbahn eingeführtes Eiweiss in bestimmte Endprodukte aufzulösen, ist anscheinend, wenigstens unter normalen Verhältnissen eine unbegrenzte. Auch bei der reichlichsten Aufnahme von Eiweiss in den Darm, entgeht nichts davon den zersetzenden Einflüssen des Körpers, gelangt keine Spur von unverändertem Eiweiss in den Harn, während die Organe des Körpers allerdings befähigt sind, unter Umständen Antheile des Nahrungseiweiss aufzuspeichern. Es zeigt sich weiterhin eine sehr bemerkenswerthe Constanz in der Relation der Zersetzungsprodukte unter einander. Immer nimmt der bei Weitem grösste Theil des Stickstoffs im Eiweiss die Form von Harnstoff an, ein gewisser die Form der Harnsäure, etc.; wir vermögen in diesen Verlauf der Zersetzung des Eiweiss bis jetzt experimentell nur sehr unbedeutende Modificationen hineinzutragen. Wir können durch Verabreichung von Säure eine relative Zunahme der Ammoniaksalze im Harn gegenüber dem Harnstoff, durch Basen umgekehrt eine Abnahme derselben herbeiführen, durch Verschlussung des Darmkanals die Stickstoffmenge steigern, die in Form von Indican im Harn erscheint, dagegen vermögen wir auf das Verhältniss zwischen Harnsäure und Harnstoff schon nicht mehr bestimmt einzuwirken, und die Modificationen, die wir anzubringen ver-

mögen, halten sich quantitativ immer in sehr bescheidenen Grenzen. Trotz dieser Constanz in dem Ablauf der Zersetzungsprozesse des Eiweiss sind wir doch über den Weg, auf welchem der Stickstoff desselben in Harnstoff übergeht, noch durchaus nicht vollständig unterrichtet.

Einer der Wege, welche sich darbieten, der Lösung dieses Problems näher zu kommen ist der, zu untersuchen, wie sich solche Verbindungen, die wir ausserhalb des Körpers aus dem Eiweiss darstellen können, verhalten, wenn wir sie dem Thierkörper zuführen. Es sind hauptsächlich zwei Formen, welche der Stickstoff des Eiweiss beim Behandeln mit starkem Agentien annimmt, die des Ammoniaks und die der Amidosäure der Fettreihe. Das Ammoniak bildet sich vorwiegend bei der Einwirkung starker Alkalien und bei der Fäulniss, die Amidosäuren bei der Behandlung mit Säuren, aber es fehlen weder bei der Alkaliwirkung die Amidosäuren, noch bei der Säureeinwirkung das Ammoniak und die Amidosäuren selbst können unter Umständen in Ammoniaksalze übergehen, sodass wohl die Auffassung zulässig ist, dass zwischen der Einwirkung der Säuren und Aetzalkalien nur graduelle Unterschiede existiren.

Vom Ammoniak können wir es jetzt als festgestellt ansehen, dass es dem Thierkörper von aussen zugeführt, in Harnstoff übergeht und der Gehalt des Harns des Menschen und der Fleischfresser an Ammoniaksalzen beweist, das zeitweilig  $\text{NH}_3$  als Salz in den Geweben existirt, ein normales Stoffwechselprodukt ist. Aber wir wissen nicht, ob der gesammte Stickstoff des Eiweiss, ehe er Harnstoff wird, die Form des Ammoniaks annimmt und es ist auch kein Vorgang im Körper bekannt, durch den Ammoniak in ansehnlicher Menge im Körper aus Eiweiss abgespalten wird.

In den Amidosäuren Zwischenstufen zwischen Eiweiss und Harnstoff zu vermuthen, war eine sehr nahe liegende Annahme nach den Beobachtungen von Kühne über die reichliche Bildung von Leucin und Tyrosin aus Eiweiss bei Einwirkung des Pankreasfermentes, wenn man auch durchaus noch nicht wusste und nicht weiss, in wel-

chem Umfange diese Zersetzung des Eiweisses thatsächlich im Organismus vor sich geht.

In der That gelangten auch bekanntlich Schültzen und Nencki<sup>1)</sup> durch Fütterungsversuche mit Amidosäuren zu dem Resultat, dass sie im Organismus in Harnstoff übergehen. Gegen die Versuche dieser Autoren, sowie der späteren von Bredschneider (Dissertation 1876) mit Leucin und von Knieriem mit Asparaginsäure (Zeitschr. f. Biol. Bd. X, p. 263) konnte bis vor Kurzem kein wesentlicher Einwand erhoben werden. Wenn sie auch nicht absolut fehlerfrei genannt werden können, so kann man ihnen doch die Beweiskraft für den aus ihnen gezogenen Schluss in keiner Weise absprechen, vorausgesetzt, dass man die Methode der Harnstoffbestimmung anerkennt. Diese Voraussetzung trifft nun nicht mehr zu, seitdem ich gefunden habe, dass manche Amidosäuren im Organismus in Uramidosäuren übergehen, wie das Taurin und die Amidobenzoensäure. Die betreffenden Uramidosäuren entstehen ausserhalb des Organismus mit grosser Leichtigkeit durch Einwirkung von Kaliumcyanat; nun reagirt das Glycocoll ebenso leicht auf Kaliumcyanat, wie die genannten Amidosäuren und bildet Hydantoinensäure. Warum sollte das Glycocoll sich nicht auch im Organismus ebenso verhalten, wie Taurin und Amidobenzoensäure? Es liegt zunächst kein Grund vor, ein abweichendes Verhalten vorauszusagen. Die Entscheidung dieser Frage ist in vorliegendem Falle aber von grossem Werth; findet es sich, dass die Amidosäuren in der That Uramidosäuren bilden und nicht Harnstoff, so kommt dieser Modus der Harnstoffbildung nicht in Betracht und es ist dadurch gleichzeitig die Bildung erheblicher Menge Amidosäuren im Körper ausgeschlossen. Chemisch ist der Vorgang der Bildung von Harnstoff und von Uramidosäuren, die man als substituirte Harnstoffe betrachten kann, ziemlich derselbe, darin stimme ich Schmiedeberg bei: widersteht der Atomcomplex, welchen die Amidosäure ausser  $\text{NH}_2$  noch enthält, den zersetzenden Einflüssen im Organismus, so entsteht eine

<sup>1)</sup> Zeitschr. f. Biolog. Bd. VIII. p. 124.

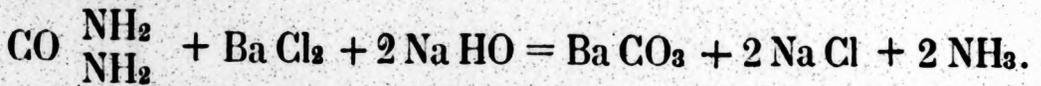
Uramidosäure — ist er weniger fest gefügt, so zerfällt er und es entsteht ein einfacher Harnstoff. Im Allgemeinen hat diese Frage also allerdings nur ein untergeordnetes Interesse, im vorliegenden Falle aber ist ihre Entscheidung offenbar von nicht zu verkennendem Werthe.

Nach dieser Richtung hin sind die Versuche von Schultzen und Nencki, sowie die der späteren Beobachter nicht mehr beweisend. Man kann aus ihnen mit demselben Recht ableiten, dass das Glycocoll beispielsweise in Hydantoinsäure übergegangen sei. Alle Beobachter stützen sich auf die Bunsen'sche Methode der Harnstoffbestimmung, haben nur diese benutzt. Bei der Bunsen'schen Methode wird bekanntlich die aus dem Harn unter bestimmten Verhältnissen sich entwickelnde  $\text{CO}_2$ -Menge bestimmt, unter der stillschweigenden Voraussetzung, dass diese Kohlensäure keine andere Quelle haben könne, wie der Harnstoff. Diese Voraussetzung ist im Ganzen richtig für normalen Harn, namentlich Hundeharn, unter pathologischen Verhältnissen ist sie es nicht mehr. Hoppe-Seyler hat bereits darauf aufmerksam gemacht, dass sowohl Kohlehydrate, wie Eiweiss beim Erhitzen mit ammoniakalischer Chlorbaryumlösung reichlich Kohlensäure entwickeln, ich habe mich durch Nachprüfungen gleichfalls davon überzeugen können. Man würde also ganz unbrauchbare Resultate erhalten, wenn man im Harn eines Diabetikers den Harnstoff nach Bunsen bestimmen wollte. Aehnlich verhält es sich auch mit dem Harn nach Einführung heterogener Substanzen. Die Uramidosäuren werden ebenso leicht zersetzt, wie der Harnstoff, und 1 Mol. derselben liefert ebensoviel  $\text{CO}_2$ , wie 1 Mol. Harnstoff. Die Bunsen'sche Methode ist in diesem Falle also nicht eindeutig; die Versuche mit Amidosäure mussten wiederholt werden und ich musste mich nach Methoden umsehen, welche diese Zweideutigkeit beseitigten. Selbstverständlich soll damit kein Vorwurf gegen Schultzen und Nencki ausgesprochen werden: die Uramidosäuren waren zu der Zeit ihrer Versuche kaum bekannt und sie waren daher berechtigt, die Bunsen'sche Methode für beweisend zu halten.

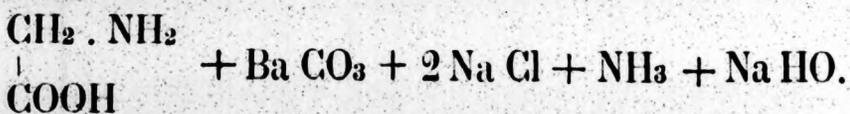
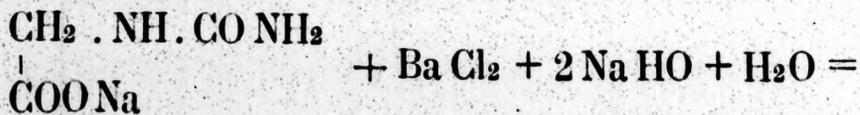
Wenn wir nun den Vorgang der Zersetzung durch das Bunsen'sche Reagens näher in's Auge fassen, so ergibt sich alsbald ein wesentlicher Unterschied zwischen der Zersetzung des Harnstoffs und der Uramidosäure: im Harnstoff sind die beiden N-Atome in gleicher Weise gebunden, in den Uramidosäuren in ungleicher. Das eine derselben ist fester gebunden, es hängt mit einem grösseren Atomcomplex zusammen, der durch Erhitzen mit alkalischer Chlorbaryumlösung nicht gesprengt wird. Während also der Harnstoff in kohlen-saures Ammoniak übergeht, zersetzen sich die Uramidosäuren in Kohlensäure, Ammoniak und Amidosäure; während beim Harnstoff das entstehende Ammoniak der Kohlensäure äquivalent ist, beträgt es bei den Uramidosäuren nur die Hälfte davon. Gleiche Moleculargewichte Harnstoff und Uramidosäure liefern also dieselben absoluten Mengen kohlen-sauren Baryt bei der Zersetzung, die Uramidosäuren aber nur halb soviel  $\text{NH}_3$ . Die gleichzeitige Bestimmung des in der Reaktionsflüssigkeit entstandenen Ammoniaks ermöglicht uns also ein Urtheil darüber, ob die Kohlensäure von Zersetzung von Harnstoff stammt, oder von Uramidosäure oder beiden zusammen. Der Umstand, dass die bei der Zersetzung des Harnstoffs entstehenden Mengen  $\text{CO}_2$  und  $\text{NH}_3$  einander äquivalent sind, hat nun noch die weitere Consequenz, dass die Alkalescenz der Reaktionsflüssigkeit sich nicht ändert, dass sie vor dem Erhitzen und nach dem Erhitzen dieselbe ist. Auch bei den Uramidosäuren kann dieses der Fall sein; als bestimmendes Moment kommt daneben noch die Natur der Amidosäure in Betracht. Es ergibt sich so eine Reihe von möglichen Fällen, bei welchen auch der Umstand noch berücksichtigt werden muss, dass im Harn vielleicht nicht Uramidosäuren auftreten könnten, sondern Anhydride derselben, da ein solcher Uebergang bei diesen Körpern notorisch sehr leicht stattfindet. Es ergeben sich so folgende Fälle, bei denen ich der leichten Uebersichtlichkeit wegen zwei Aequivalent Natronhydrat als Alkalescenz der Flüssigkeit vor dem Erhitzen annehme:

1. Fall. Kohlensäure und Ammoniak entste-

hen in äquivalenten Mengen, die Alkaleszenz der Flüssigkeit ändert sich nicht. Dieses findet nur beim Harnstoff statt.



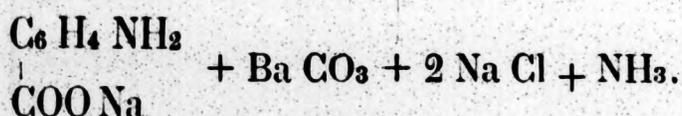
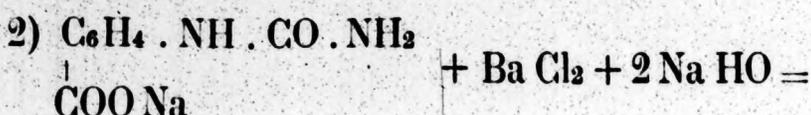
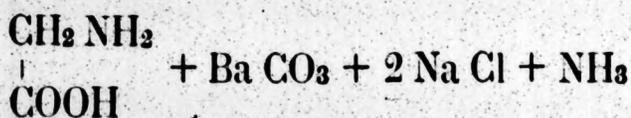
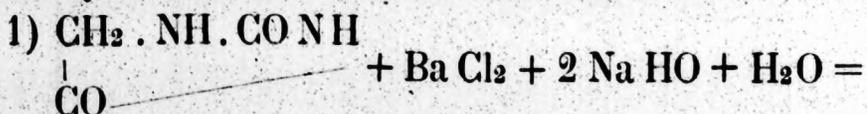
2. Fall. Kohlensäure und Ammoniak treten im Verhältniss von 2 Aeq. : 1 Aeq. auf, die Alkaleszenz der Flüssigkeit ändert sich jedoch nicht. Dieses findet statt bei der Hydantoinensäure, der Uramidoisäthinsäure, etc.



Der Grund für die Erscheinung ist klar. Die Uramidosäure bindet ein Aequivalent Alkali, sodass es bei der Feststellung der Alkaleszenz nicht in Betracht kommt, die entstandene Amidosäure vermag aber kein Alkali festzuhalten (da sie nicht sauer reagirt), dieses Aequivalent Alkali wird also frei. Darum findet eine Abnahme der Alkaleszenz nicht statt, trotzdem die entwickelte  $\text{NH}_3$ -Menge der  $\text{CO}_2$  nicht äquivalent ist.

3. Fall. Kohlensäure und Ammoniak treten in dem Verhältniss von 2 Aeq. : 1 Aeq. auf, die Alkaleszenz nimmt um 1 Aeq. ab. Dieses findet statt:

1) bei den Anhydriden der vorgenannten Uramidosäuren;  
2) bei denjenigen Uramidosäuren, deren Amidosäuren ausgesprochenen Säurecharakter haben. Als Beispiele führe ich das Hydantoin und die Uramidobenzoësäure an:



Damit ist die Reihe der möglichen Fälle für die bisher bekannten Verbindungen erschöpft. Denkbar sind noch weitere Fälle: so müsste das Anhydrid der Uramidobenzoësäure eine Abnahme der Alkaleszenz um 2. Aeq. ergeben. Die Feststellung der Alkaleszenzverhältnisse ergibt also, wie man sieht, auch Anhaltspunkte zur Entscheidung der Frage, ob Uramidosäuren oder Anhydride derselben vorliegen.

Die Methoden, deren ich mich bedient, um diese Verhältnisse bei der Bunsen'schen Bestimmung festzustellen, sind folgende:

Zunächst ist es klar, dass eine stark ammoniakalische Chlorbaryumlösung, wie sie Bunsen vorschreibt, für den vorliegenden Zweck unbrauchbar ist, wenn man auch den Ammoniakgehalt der Lösung genau bestimmen würde. Die aus der Zersetzung von Harnstoff resp. Uramidosäuren hervorgehenden  $\text{NH}_3$ -Mengen sind immer nur gering, fast verschwindend, gegen den vorgeschriebenen starken Ammonzusatz. Aber auch aus einem anderen Grunde musste ich von stark ammoniakalischen Lösungen absehen, selbst in den Fällen, wo eine quantitative Bestimmung des abgespaltenen Ammoniaks nicht beabsichtigt war. So oft ich solche Lösungen anwendete, wie Schultzen und Nencki sie angeben,<sup>1)</sup> «bereitet durch Sättigen von starkem Aetzammoniak mit Chlorbaryum» wurden die Röhren ausserordentlich stark angegriffen: es bildeten sich dicke Rinden von kieselsaurem Baryt, der dann beim Behandeln mit Salzsäure nach dem Auswaschen zum Theil aufgeschlossen wurde. So wurde in einem Versuche concentrirte wässrige  $\text{BaCl}_2$ -Lösung mit  $\frac{1}{3}$  Vol. starkem Aetzammoniak versetzt, alsdann in die Röhre noch 4 gr. festes  $\text{BaCl}_2$  gebracht. Nach 4stündigem Erhitzen bei  $210^\circ$  war die Röhre vollständig weiss und undurchsichtig geworden. Nach dem Auswaschen, Behandeln mit Salzsäure, etc. wurden 0,367 gr.  $\text{BaSO}_4$  erhalten! So vielfach ich auch die Mengenverhältnisse des  $\text{BaCl}_2$  variierte, der Erfolg war im

<sup>1)</sup> Zeitschr. f. Biol. VIII., p. 140. Bunsen selbst macht über die von ihm verwendete Lösung keine nähere Angabe, sondern bezeichnet sie nur als «ammoniakalische Chlorbaryumlösung.»

Wesentlichen immer derselbe: es war mir unmöglich, eine Harnstoffbestimmung mit stark ammoniakalischen Mischungen auszuführen. Dasselbe hat auch früher schon Pikelharing<sup>1)</sup> beobachtet. Ich bemerke, dass ich zu allen Bunsen'schen Bestimmungen ein sonst in jeder Beziehung vorzügliches böhmisches Kaliglas, aus der Glashütte Sazawa, von Joseph Kawalier direkt bezogen, verwendet habe.

Für den vorliegenden Zweck hätten wir aber auch mit schwächer ammoniakalischen Lösungen Unzuträglichkeiten gehabt, es hätte sich immer um Differenzbestimmungen gehandelt, die man doch gern vermeidet. Aus diesem Grunde habe ich zu der Chlorbaryumlösung statt des Ammoniaks Natronhydrat hinzugesetzt, obwohl Lösungen gleichen Alkaleszenzgrades mit Natron an sich die Röhren stärker angreifen. Dieser Nachtheil gleicht sich indessen, wie wir gleich sehen werden, aus.

Der Zusatz von Aetznatron wurde so bemessen, dass die Alkaleszenz in den stets angewendeten 15 Cc. Mischung gleicher Mengen Harn und alkalischer Chlorbaryumlösung etwa 8—10 Cc.  $\frac{1}{10}$  Normalsäure entsprach. Schwächer darf man die Alkaleszenz nicht nehmen, weil sonst die Flüssigkeit unter Umständen beim Erhitzen neutrale, resp. saure Reaktion annehmen könnte, wodurch natürlich die Bestimmung verloren wäre. In der Regel benutze ich eine gesättigte Lösung von  $\text{BaCl}_2$  mit einem Zusatz von 15—20 Cc. Natronlauge von 1,34 spec. Gewicht zum Liter. Die Ausführung gestaltet sich sehr einfach. Es scheint mir zweckmässig, sie für den Harn zu beschreiben; die in den Controlversuchen mit reinen Substanzen angewendeten Modificationen ergeben sich leicht von selbst.

Gleiche Volumina des schwach sauer reagirenden Harns und der alkalischen Chlorbaryumlösung, beispielsweise je 50 Cubicc. mit der Pipette abgemessen, werden gemischt und nach einigen Minuten durch ein nicht angefeuchtetes Faltenfilter filtrirt. 15 Cc. des Filtrates dienen zur Bestimmung der Alkaleszenz mit  $\frac{1}{10}$  oder  $\frac{1}{4}$  Normalschwetel-

<sup>1)</sup> Arch. neerland. Tom X.

säure unter Benutzung von Rosolsäure als Indicator. Die Eigenfärbung des Harns stört dabei in der Regel nicht, da der verwendete Harn an sich ziemlich verdünnt und blass ist, durch die Fällung mit alkalischer Chlorbaryumlösung wohl auch noch weiterhin entfärbt wird; ausserdem erleichtert der entstehende weisse Niederschlag von  $\text{BaSO}_4$  die Erkennung der Endreaktion, indem er gewissermassen als Unterlage dient. Ergibt sich die Alkaleszenz der 15 Cc. geringer als 8 Cc.  $\frac{1}{10}$  Säure entsprechend, so macht man zweckmässig eine neue Mischung, zu welcher man eine durch weiteren Zusatz von Normalnatron entsprechend «verstärkte» Chlorbaryumlösung verwendet. Das erforderliche Plus an Alkali ist leicht zu berechnen.

Ist die Alkaleszenz festgestellt, so lässt man je 15 Cc. des Filtrates in zwei vorher mit 4—5 gr. Chlorbaryum<sup>1)</sup> beschickte, 35—40 Centim. lange, unten ausgezogene Röhren von Kaliglas einfliessen — man wählt sie zweckmässig so weit, dass sie von 15 Cc. noch nicht zur Hälfte gefüllt werden; die Wandstärke meiner Röhren ist nicht grösser, als  $1\frac{1}{2}$  Mm. — und schmilzt ohne Verzögerung zu. Selbstverständlich muss man alle diese Operationen mit einiger Schnelligkeit ausführen: man kann es indessen mit Leichtigkeit dahin bringen, dass die Absorption von  $\text{CO}_2$  aus der Luft, eine nur geringe Alkaleszenz der Flüssigkeit vorausgesetzt, keinen irgend merklichen Fehler bedingt, der Röhreninhalt nach dem Zuschmelzen ganz klar erscheint. Die Röhren werden nunmehr gleichzeitig  $4\frac{1}{2}$  Stunden bei  $200\text{—}220^\circ$  erhitzt. Die eine derselben dient zur Feststellung der Alkaleszenzverhältnisse und zur Bestimmung des gebildeten kohlensauren Baryts, die andere zur Ermittlung des gebildeten Ammoniaks. Die erstere wird etwa 10 Centim. vom oberen Ende entfernt, abgesprengt, der Inhalt in ein Becherglas entleert und beide Röhrenenden wiederholt nachgespült, alsdann schnell filtrirt (durch schwedisches Filter mit Druckdifferenz) und mehrmals nachgewaschen (bis das Waschwasser nicht mehr alkalisch reagirt), Filtrat + Waschwasser unter Zusatz

<sup>1)</sup> Nimmt man weniger  $\text{Ba Cl}_2$ , so werden die Röhren stärker angegriffen.

von Rosolsäure mit  $\frac{1}{10}$  oder  $\frac{1}{4}$  Säure titirt. Die Differenz zwischen dieser Bestimmung und der früheren ergibt die in Folge der Erhitzung eingetretene Alkaleszenzabnahme. Das weitere Verfahren zur Bestimmung des kohlen-sauren Baryts als schwefelsauren, habe ich schon früher beschrieben, (diese Zeitschr. I, S. 14) ich bemerke nur, dass das Auswaschen des  $\text{BaCO}_3$  besondere Sorgfalt erfordert wegen der grossen Menge des in der Flüssigkeit enthaltenen  $\text{BaCl}_2$ . — Mit der 2. Röhre wurde folgendermassen verfahren. Die lang ausgezogene Spitze wird durch einen sanften Strich mit einer scharfen Feile geritzt, die Röhre schräg in mit Salzsäure schwach angesäuertes Wasser getaucht, das sich in einem Schälchen befindet, und zwar so, dass sich der Feilstrich noch innerhalb der Flüssigkeit befindet, und durch leichtes Andrücken der Röhre an dem Boden der Schaale die Spitze abgebrochen. Die verdünnte Salzsäure steigt zunächst in der Röhre auf, der Druck der entwickelten Kohlensäure treibt aber bald den ganzen Röhreninhalt aus. Dies geschieht ohne alle Gefahr, wenn man beim Ausziehen und Zuschmelzen der Röhre die Spitze nicht zu eng gemacht hat. Nunmehr wird die Röhre aus der Flüssigkeit herausgezogen, die Spitze abgospült, dann die Röhre abgesprengt und mit heissem Wasser nachgewaschen. Die gesammte Flüssigkeit wird nun auf dem Wasserbad eingeengt und das Ammoniak durch Kochen mit Magnesia ausgetrieben und durch Auffangen in titirte Säure oder Ueberführung in  $\text{NH}_4\text{Cl}$  und Titiren mit  $\text{AgNO}_3$  bestimmt. Störend ist dabei mitunter das starke Schäumen der Flüssigkeit; man erleichtert sich die Ueberwachung der Operation sehr, wenn man den Brenner nicht central, sondern peripher unter den Destillationskolben setzt, der auf einem Drahtnetz steht. — Ich möchte übrigens nicht gerade behaupten, dass das beschriebene Verfahren des Oeffnens der Röhre unter Säure absolut nöthig ist: ich habe sehr häufig auch zur Ammonbestimmung das Filtrat vom kohlen-sauren Baryt benutzt, in dem vorher die Alkaleszenz bestimmt war. Dasselbe wurde noch mit einigen Tropfen Säure versetzt und entsprechend eingeengt. Dieses Verfahren bietet den Vortheil,

dass man mit einer Röhre auskommt; ausserdem erfordert das oben beschriebene Verfahren allerdings einige Uebung.

Es war nunmehr meine Aufgabe, festzustellen, ob die oben aufgestellten Zersetzungsgleichungen sich mit Hülfe der erörterten Methoden als richtig erweisen lassen. Die Zahlen für  $\text{BaCO}_3$  und  $\text{BaSO}_4$  habe ich regelmässig nicht auf  $\text{CO}_2$  umgerechnet, sondern auf  $\text{CO}$ . Ebenso führe ich für die Ammoniakbestimmungen nicht  $\text{NH}_3$ , sondern  $\text{N}$  an. Bei dieser Art der Berechnung ergibt sich der grosse Vortheil, dass  $\text{CO}$  und  $\text{N}$  des Ammoniaks in einem sehr einfachen Gewichts-Verhältniss stehen, für den Harnstoff nämlich 1 : 1, für die Uramidosäuren 1 : 0,5.

### Erste Gruppe. Harnstoff.

Versuch I. 1,141 gr. völlig trockner Harnstoff in 60 Cc. Wasser gelöst ( $4 \times 15$  Cc. mit der Pipette abgemessen), dazu 60 Cc. alkalische  $\text{BaCl}_2$ -Lösung. Gesamtvolumen 120 Cc.

15 Cc. enthalten  $0,1426 \text{ Ur} = 0,06656 \text{ N}$ . Die Alkaleszenz ergibt sich für 15 Cc. = 13,55 Cc.  $\frac{1}{10}$  Säure. Je 15 Cc. werden in 3 Röhren eingeschlossen und erhitzt.

Röhre 1.  $4\frac{1}{2}$  Stunden bei  $160-170^\circ$ . Alkaleszenz des Filtrates vom  $\text{BaCO}_3 = 12,2$  Cc.  $\frac{1}{10}$  Säure, also Abnahme 1,4 Cc. Erhalten  $0,4485 \text{ BaCO}_3$  und  $0,0145 \text{ BaSO}_4$ .

Hieraus berechnet sich  $0,06548 \text{ CO} = 45,92\%$ . Im Filtrat  $\text{NH}_3$  bestimmt =  $0,06412 \text{ N} = 44,96\%$ .

Röhre 2 ebenso behandelt.  $0,3695 \text{ BaCO}_3$  und  $0,1050 \text{ BaSO}_4 = 0,06514 \text{ CO} = 45,68\%$ . Im Filtrat  $0,06357 \text{ N}$  als  $\text{NH}_3 = 44,0\%$ .

Röhre 3.  $4\frac{1}{2}$  Stunden auf  $200^\circ$ . Alkaleszenzabnahme 0,9 Cc.  $\frac{1}{10}$  Säure.  $\text{N } 0,06476 = 45,41\%$ .

Die allerdings geringe Abnahme der Alkaleszenz beruht wohl zum Theil auf dem Entweichen von etwas Ammoniak beim Filtriren. Die Werthe für  $\text{CO}$  entfernen sich nur wenig von dem geforderten  $46,67\%$  und weichen auch untereinander wenig ab. Etwas weiter vom theoretischen Werth entfernen sich die Zahlen für das Ammoniak, doch ist dabei in Betracht zu ziehen, dass die absoluten Differenzen sehr geringfügig sind.

Der CO-Gehalt beträgt im Mittel 65,32 Mg, der N-Gehalt 64,15 Mg. Verhältniss von CO : N = 100 : 98,2. Da sich derselbe dem theoretischen sehr nähert, habe ich es für überflüssig gehalten, neue Versuche nach dem Verfahren anzustellen, bei welchen das NH<sub>3</sub> nicht im Filtrat, sondern direct bestimmt wird. Die Differenz würde vielleicht noch geringer geworden sein. Weitere Belege finden sich in späteren Versuchen, in denen zu Harn Harnstoff zugesetzt wurde.

Der Umstand, dass namentlich bei Kaninchenharn die CO<sub>2</sub>-Menge erheblich zu hohe Werthe giebt (im Verhältniss zum NH<sub>3</sub>), veranlasste mich zu einem Versuch, die Zersetzung bei niedriger Temperatur herbeizuführen. Dies gelang indessen nicht, wie Versuch II zeigt.

0,1203 gr. <sup>+</sup>Ur 4½ Stunden mit alkal. Ba Cl<sub>2</sub>-Lösung (Alkaleszenz in 15 Cc. = 13,5<sub>10</sub> Säure) bei 140° erhitzt gab 0,2635 Ba CO<sub>3</sub> (Ba SO<sub>4</sub> unwägbar) entsprechend 0,0803 <sup>+</sup>Ur; im Filtrat von Ba CO<sub>3</sub> war Harnstoff nach dem Eindampfen, Ausziehen mit Alkohol etc. durch Fällung mit Salpetersäure nachweisbar. Man wird also für den Harnstoff nicht unter 170° heruntergehen können.

Zweite Gruppe. Uramidosäuren der Fettreihe.

Versuch III. 1,0245 Hydantoinensäure (Moleculargew. = 118) über SO<sub>4</sub>H<sub>2</sub> getrocknet, wird durch Zusatz von Natronlauge von bekanntem Gehalt in Lösung gebracht, eine Spur Rosolsäure dient als Indicator. Die Säure bindet 0,1993 Na, erfordert 0,1998, sie ist also völlig rein und frei von Hydantoin. Die Lösung wird auf 45 Cc. gebracht, 45 Cc. etwas stärker alkalische Ba Cl<sub>2</sub>-Lösung hinzugesetzt = 90 Cc. 15 Cc. brauchen zur Neutralisation 13,0 Cc. <sub>10</sub> Säure. — 15 Cc. enthalten 0,17075 Hydantoinensäure. Hydantoinensäure enthält 23,73% in Form von CO<sub>2</sub> abspaltbares CO und 11,86% in Form von NH<sub>3</sub> abspaltbaren N. Je 15 Cc. werden eingeschlossen und erhitzt.

No. 1. 5 Stunden bei 125—130° giebt 0,2325 B<sub>2</sub> SO<sub>4</sub> = 0,028 CO = 16,4%, also ist die Zersetzung bei dieser Temperatur unvollständig.

No. 2. 4 $\frac{1}{2}$  Stunden bei 200°.

a) Alkaleszenz 10,2 Cc., also Abnahme 2,8 $\frac{1}{10}$  Alkali,

b) 0,685 Ba SO<sub>4</sub> = 0,04428 CO = 25,93%.

No. 3 ebenso erhitzt. 0,01995 N als NH<sub>3</sub> = 11,74%.

Versuch IV. 0,706 Hydantoinensäure mit 22,8 Cc.  $\frac{1}{4}$  Normalnatron neutrale Reaction (berechnet 22,2 Cc.); mit alkal. Ba Cl<sub>2</sub>-Lösung auf 60 Cc. 15 Cc. = 0,1765 Hydantoinensäure. 15 Cc. sättigen 13,8 Cc.  $\frac{1}{10}$  Säure.

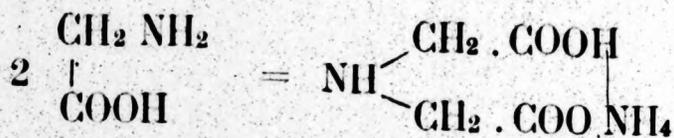
Röhre No. 1. a) Alkaleszenzabnahme 2,5 Cc.  $\frac{1}{10}$  Alkali.

b) Ba SO<sub>4</sub> 0,3883 = 0,04662 CO = 26,3%.

Röhre No. 2. Direkte Ammonbestimmung 0,02187 N = 12,4%.

Versuch V. 15 Cc. eines Harnfiltrates aus gleichen Vol. Harn und alkalischer Ba Cl<sub>2</sub>-Lösung gab 0,268 Ba CO<sub>3</sub> und 0,199 Ba SO<sub>4</sub>. Dasselbe Harnfiltrat + 0,2349 Methylhydantoinensäure mit Alkali neutralisirt, gab 0,2705 Ba CO<sub>3</sub> und 0,3785 Ba SO<sub>4</sub>. Daraus ergibt sich 0,0272 CO auf die zugesetzte Methylhydantoinensäure zu beziehen = 11,57% berechnet 10,60%.

Die Versuche entsprechen also wohl im Allgemeinen den theoretischen Voraussetzungen, zeigen indessen doch weit erheblichere Abweichungen von der Rechnung, wie der Harnstoff. Die erhaltenen Mengen Ba SO<sub>4</sub> sind in allen Fällen zu hoch, in einem auch die Ammoniakmenge, auch die Alkaleszenzabnahme stärker wie beim Harnstoff, während sie nur ebenso gross sein sollte. Für das Plus an NH<sub>3</sub> liess sich wohl eine plausible Erklärung finden. Ich habe früher beobachtet, dass das Taurin, wahrscheinlich auch die andern Amidosäuren beim Erhitzen mit Barytwasser auf hohe Temperaturen Ammoniak abgeben. Das Taurin bildet dabei eine Säure, die man als Diamidosulfäthylsäure bezeichnen kann. Ihre Reindarstellung ist übrigens in späteren Versuchen daran gescheitert, dass es nicht gelang, sie von unzersetztem Taurin zu trennen. Es ist sehr wohl denkbar, dass diese Reaction in geringem Umfang auch durch die alkalische Ba Cl<sub>2</sub>-Lösung bewirkt wird, die einer schwachen Aetzbarylösung gleichzusetzen ist. Das Glycocoll würde also nach der Gleichung



Ammoniaksalz der Diglycolamidsäure bilden, dagegen mangelt für die Kohlensäureabspaltung eine Erklärung. Das Glycocoll zerfällt allerdings beim Erhitzen mit trockenem Aetzbaryt direkt in Kohlensäure und Methylamin, doch war es nicht gerade wahrscheinlich, dass diese tiefgehende Spaltung schon beim Erhitzen mit der alkalischen Ba Cl<sub>2</sub>-Lösung eintreten sollte. Jedenfalls konnten nur directe Versuche darüber Aufschluss geben.

Versuch VI. 2,099 Glycocoll in Wasser gelöst, mit alkalischer Ba Cl<sub>2</sub>-Lösung auf 50 Cc. gebracht. 15 Cc. neutralisiren 12,0 Cc.  $\frac{1}{10}$  Säure. 15 Cc. enthalten 0,6297 Glycocoll.

Röhre No. 1. 4 $\frac{1}{2}$  Stunden bei 200°.

a) Alkaleszenzabnahme 4 Cc.  $\frac{1}{10}$  Alkali.

b) Ba SO<sub>4</sub> = 0,155. Scheinbarer CO-Gehalt 0,0186 = 2,96%.

Röhre No. 2 gleichzeitig erhitzt.

Direkte Ammonbestimmung = 0,0071 N = 1,13%.

Versuch VII. 1,4560 Glycocoll in Wasser gelöst, mit alkalischer Ba Cl<sub>2</sub>-Lösung auf 60 Cc. 15 Cc. neutralisiren 11,4 Cc.  $\frac{1}{10}$  Säure. 15 Cc. enthalten 0,3663 Glycocoll. Die Röhren 4 $\frac{1}{2}$  Stunden bei 210° erhitzt.

Röhre No. 1. a) Alkaleszenzabnahme 4,1 Cc.  $\frac{1}{10}$  Alkali.

b) 0,1028 Ba SO<sub>4</sub>. Scheinbarer CO-Gehalt 0,01235 = 3,38%.

Röhre No. 2. Das NH<sub>3</sub> entspricht 0,00595 N = 1,6%. Die Destillate von der Ammonbestimmung wurden eingedampft und mit absolutem Alkohol ausgezogen. Der Auszug gab in beiden Fällen mit Chloroform und Natronlauge eine unzweifelhafte Isonitrilreaction. Es ist somit nicht zu bezweifeln, dass das Glycocoll eine, wenn auch nicht sehr umfangreiche Zersetzung in Kohlensäure und Methylamin erfährt.

Bei näherer Ueberlegung musste ich mir indessen sagen, dass die beim Glycocollversuch herrschenden Bedingungen nicht ganz dieselben waren, wie bei dem Versuch mit Harnstoff. In diesem enthielt die Flüssigkeit sehr bald nach dem Beginn des Erhitzens in Folge der Zersetzung kein freies Natron mehr, das vielmehr durch die Salzsäure des  $BaCl_2$  gebunden wird, sondern Ammoniak. Im Glycocollversuch dagegen auch am Ende des Versuches freies Natron. Wir haben es also bei dem Versuch mit Harnstoff für den grössten Theil der Dauer des Versuches mit einer ammoniakalischen, beim Glycocoll dagegen mit einer durch fixes Alkali alkalischen  $BaCl_2$ -Lösung zu thun. Dieser Umstand konnte von doppelter Bedeutung sein. Es war sehr wohl denkbar, dass eine natronhaltige  $BaCl_2$ -Lösung stärker auf die Amidosäure einwirkt, wie eine gleiche ammoniakalische und auch, dass sie das Glas stärker angreift, mehr kieselsauren Baryt bildet. Das Letztere ergab sich nun in der That und zwar in ziemlich wechselndem, mitunter sehr hohem Grade im Allgemeinen natürlich steigend mit dem Alkaligehalt.

Bei den nachfolgenden Versuchen betrug die Temperatur 210 bis 220°, die Zeit des Erhitzens 4½ Stunden. Die Röhren waren in allen Fällen, in denen ein Gemisch von  $BaCl_2$  und  $NaHO$  angewendet wurde, nach dem Erhitzen stets vollständig weiss und undurchsichtig. Auch in diesen Versuchen wurde eine concentrirte  $BaCl_2$ -Lösung angewendet, jedoch, ausgenommen in Versuch VIII b), kein festes  $BaCl_2$  hinzugefügt. Ich stelle die Resultate tabellarisch zusammen.

Versuchsnummer.	Alkaleszenz vor dem Erhitzen in $\frac{1}{10}$ Alkali.	Dieselbe nach dem Erhitzen.	Also Abnahme.	$Ba SO_4$
VIII.				
a)	8,5 Cc.	4,9 Cc.	3,6 Cc.	0,0406
b)	8,5 »	6,75 »	1,75 »	0,0274
IX.				
a)	12,5 »	2,7 »	9,8 »	0,1673
b)	12,5 »	4,5 »	8,0 »	0,1020
X.	26,1 »	3,6 »	22,5 »	0,3024

Man sieht also, dass mit steigendem Alkaligehalt die Abnahme der Alkaleszenz und die Menge des schwefelsauren Baryt steigt. Was die Ursache für die Abnahme der Alkaleszenz betrifft, so ist sie meines Erachtens darin zu suchen, dass bei der Zersetzung des Glases viel Kieselsäure neben relativ wenig Basen frei werden. Bei der Bildung des Baryumsilicats findet die freiwerdende Salzsäure aus dem  $\text{BaCl}_2$  also keine andern Basen zur Sättigung als die in der Flüssigkeit präformirten. — Dass das  $\text{BaCl}_2$  bei der Alkaleszenzabnahme eine wesentliche Rolle spielt, lässt sich durch Erhitzen von Alkali allein zeigen.

Versuch XI. Eine schwache Lösung von Natronhydrat, von der 15 Cc. 14,25 Cc.  $\frac{1}{10}$  sättigten, wurde in 2 Röhren  $4\frac{1}{2}$  Stunden bei  $210^\circ$  gehalten. Nach dem Erhitzen betrug die Alkaleszenz im Mittel 18,1 Cc., also 3,8 Zunahme.

Ganz anders gestalten sich nun aber die Verhältnisse, wenn man der alkalischen  $\text{BaCl}_2$ -Lösung etwas Chlorammonium zusetzt.

Versuch XII.  $\text{BaCl}_2$  und  $\text{NaHO}$ . Alkaleszenz in 15 Cc. = 8 Cc.  $\frac{1}{10}$  Säure. Zusatz von 1,5 Cc. kaltgesättigter Lösung von  $\text{NH}_4\text{Cl}$  vor dem Zuschmelzen, d. i. etwas mehr als die dem Natron äquivalente Menge. — Das Rohr ist nach dem Erhitzen vollkommen unangegriffen, die schliesslich erhaltene salzsaure Lösung trübt sich auf Zusatz von  $\text{SO}_4\text{H}_2$  nur sehr langsam; nach 24 Stunden abfiltrirt. Erhalten 0,0058  $\text{BaSO}_4$ .

Um meiner Sache ganz sicher zu sein, stellte ich noch einige Parallelversuche an. Es diente hiezu eine Salmiaklösung von 20%.

Versuch XIII.  $\text{BaCl}_2$  und  $\text{NaHO}$ . Alkaleszenz = 11,1 Cc.  $\frac{1}{10}$ .

Röhre No. 1 ohne Chlorammonium-Zusatz.

a) Alkaleszenzabnahme 10,5 Cc.

b)  $\text{BaSO}_4$  0,2006.

Röhre nach dem Erhitzen stark weiss.

Röhre No. 2. 1 Cc.  $\text{NH}_4\text{Cl}$ -Lösung zugesetzt.

a) Alkaleszenzabnahme nicht zu constatiren.

b)  $\text{BaSO}_4$  0,0056.

Die Röhre ist fast vollständig klar, nur an den Flüssigkeitsgrenzen leichte weisse Streifen.

Versuch XIV.  $\text{BaCl}_2$  und  $\text{NaHO}$ . 15 Cc. sättigen 34,25 Cc.  $\frac{1}{10}$  Säure.

Röhre No. 1 ohne Chlorammonium-Zusatz.

a) Alkaleszenzabnahme 16,2 Cc.  $\frac{1}{10}$ .

b)  $\text{BaSO}_4$  0,1774.

Röhre nach dem Erhitzen stark angegriffen.

Röhre No. 2 mit Zusatz von 3 Cc. der  $\text{NH}_4\text{Cl}$ -Lösung.

a) Alkaleszenzabnahme 0,9 Cc.  $\frac{1}{10}$ .

b)  $\text{BaSO}_4$  0,0104.

Röhre fast vollständig klar, nur an den Flüssigkeitsgrenzen weissliche Streifen.

Der Erfolg dieser Versuche ist unzweifelhaft: man sieht, dass selbst bei sehr hohen Alkaleszenzgraden, wie ich sie fast nie angewendet habe, das Glas fast intact bleibt, die Alkaleszenz sich so gut wie garnicht ändert und der erhaltene  $\text{BaSO}_4$  nur ein Minimum beträgt, wenn die Flüssigkeit gleichzeitig ein Ammonsalz enthält. Eine kleine Menge  $\text{BaSO}_4$  wird man bei den Versuchen à blanc auch unter den günstigsten Verhältnissen immer bekommen: Die Einwirkung der  $\text{CO}_2$  der Luft während des Filtrirens der Mischung und während des Einschmelzens ist eben nicht ganz zu vermeiden. Was die Mengenverhältnisse des aus der alkalischen nicht mit Ammonsalz versetzten Lösung erhaltenen  $\text{BaSO}_4$  betrifft, so wechseln sie ziemlich stark ohne recht ersichtlichen Grund. Es kommt dabei wohl in Betracht, dass die Salzsäure dem gebildeten Silicat bald etwas mehr, bald weniger Baryum entzieht; es mag wohl auch etwas Kieselsäure in Lösung gehen, die dann mit dem  $\text{BaSO}_4$  in wechselnder Menge ausfällt.

Beim Harn zersetzt sich ein Theil des Harnstoffs sehr bald, so dass man bei Verwendung einer alkalischen  $\text{BaCl}_2$ - von der angegebenen Alkaleszenz den Einfluss der Lösung

auf das Glas nicht zu fürchten hat — die Controlversuche mit Harnstofflösungen zeigen dieses in der deutlichsten Weise. Dagegen sind in den Versuchen mit Glycocoll VI und VII wahrscheinlich etwas zu hohe Werthe für die  $\text{CO}_2$  erhalten, dass sie aber nicht allein auf dieser Fehlerquelle beruhen, zeigt

Versuch XV. Es werden ungefähr 8 Cc. Normalnatron, 4 Cc. der oben benützten Salmiaklösung und 48 Cc. gesättigte  $\text{BaCl}_2$ -Lösung gemischt. 15 Cc. sättigen 19,75 Cc.  $\frac{1}{10}$  Säure. Je 15 Cc. werden mit 3 gr. fester  $\text{BaCl}_2$  in eine Röhre eingeschlossen, Nr. 1 ohne weiteren Zusatz, Nr. 2 mit 0,691 Glycocoll, beide Röhren gleichzeitig auf 210 bis 220° erhitzt.

Röhre Nr. 1 a) Alkaleszenzabnahme 1,5 Cc.  $\frac{1}{10}$  Alkali, b)  $\text{BaSO}_4$  0,0120

Rohr Nr. 2, a) 3,75 Cc.  $\frac{1}{10}$ , b)  $\text{BaSO}_4$  0,100.

Aus diesem Versuch geht hervor, dass das Glycocoll auch von ammoniakalischer  $\text{BaCl}_2$ -Lösung angegriffen wird, allerdings ist die erhaltene Quantität  $\text{BaSO}_4$  geringer.

Der in der Röhre befindliche Niederschlag löste sich übrigens unter Aufbrausen in Salzsäure, es ist also in der That  $\text{CO}_2$  abgespalten. Für  $\text{CO}$ -gehalt berechnet sich in diesem Versuch 1,74%, aus den früheren Versuchen 3,17%. In dem Verhalten des Glycocoll liegt natürlich auch die Erklärung dafür, dass die Hydantoinsäure zu hohe Werthe giebt. Ich kehre nunmehr zu den Uramidosäuren zurück.

Versuch XVI. 1,3635 gr. uramidoisäthinsäures Kali<sup>1)</sup> (Mol. Gew. 206,1) zu 30 Cc. in Wasser gelöst, dazu 30 Cc.  $\text{BaCl}_2$ -Lösung = 60 Cc. 15 Cc. der Lösung enthalten 0,3409 des Salzes. 15 Cc. sättigen 12,9 Cc.  $\frac{1}{10}$  Säure.

Röhre Nr. 1 a) Alkaleszenz-Abnahme 1,9 Cc.  $\frac{1}{10}$  Alkali. b)  $\text{BaSO}_4$  0,378 = 13,30%  $\text{CO}$  berechnet 13,58%. Röhre Nr. 2. Directe Ammonbestimmung 0,02625 N = 7,7% berechnet 6,8%.

<sup>1)</sup> Dasselbe krystallisirt wasserfrei.

Versuch XVII. 15 Cc. eines Harnfiltrates geben  $0,2195 \text{ BaCO}_3$  und  $0,2145 \text{ BaSO}_4 = 0,05098 \text{ CO}$ . Die Alkaleszenzabnahme beim Erhitzen beträgt 1,55 Cc.  $\frac{1}{10}$  Alkali. Dasselbe Harnfiltrat + 0,3175 des Salzes gab  $0,375 \text{ BaCO}_3$  und  $0,365 \text{ BaSO}_4 = 0,09786 \text{ CO}$ . Differenz 0,0466. Daraus ergibt sich für die Substanz **12,80%** CO berechnet **13,58**.

Die Alkaleszenzabnahme war dieselbe.

Versuch XVIII. Dasselbe Harnfiltrat mit 0,315 gr. des Salzes. Erhalten  $0,575 \text{ BaCO}_3$  und  $0,145 \text{ BaSO}_4$ . Gefundenen CO-gehalt **13,39%**, berechnet **13,58**.

Im Versuch XVII ist die Zersetzung wahrscheinlich unvollständig geblieben.

### Dritte Gruppe. Uramidobenzoësäure, Methylhydantoin.

Versuch XIX. 0,744 gr. Uramidobenzoësäure<sup>1)</sup> in NaHO und Wasser gelöst zu 30 Cc. Dazu 30 Cc. alkalische  $\text{BaCl}_2$ -Lösung. 15 Cc. enthaltend 0,186 Uramidosäure als Na-salz, sättigen 16,7 Cc.  $\frac{1}{10}$  Säure.

Rohr Nr. 1. Alkaleszenz-Abnahme **10,2** Cc.  $\frac{1}{10}$  Alkali; berechnet: **10,03** Cc. Ba-bestimmung verloren.

Rohr Nr. 2. Directe Ammonbestimmung  $0,0161 \text{ N} = 8,65\%$  berechnet **7,78%**.

Versuch XX. 0,439 Uramidobenzoësäure mit alkalischer  $\text{BaCl}_2$ -Lösung 8 Stunden bei  $240^\circ$  erhitzt, gab  $0,502 \text{ BaCO}_3$  und  $0,032 \text{ BaSO}_4 = 0,07173 \text{ CO} = 16,3\%$ , berechnet **15,56%**.

Versuch XXI. 15 Cc. eines Harnfiltrates geben  $0,4605 \text{ BaCO}_3$  und  $0,0645 \text{ BaSO}_4 = 0,6145 \text{ BaSO}_4$ . Dasselbe Harnfiltrat wird mit 0,107 Uramidobenzoësäure und 0,1469 Amidobenzoësäure versetzt und die berechnete Menge Alkali hinzugefügt, um die Säuren zu binden und ausserdem noch den Ueberschuss an entstehender  $\text{CO}_2$  über das abgespaltene  $\text{NH}_3$ .

Nach dem Erhitzen erhalten  $0,558 \text{ BaSO}_4$  und  $0,097 \text{ BaSO}_4$ . Daraus berechnet sich CO-Gehalt **16,0%**.

<sup>1)</sup> Aus bei  $172^\circ$  schmelzender Metaamidobenzoësäure und Kaliumcyanat nach Menschutkin dargestellt.

Versuch XXII. 15 Cc. Harnfiltrat geben 0,1425 Ba CO<sub>3</sub> und 0,3575 Ba SO<sub>4</sub>. Dasselbe Harnfiltrat + 0,183 Uramidobenzoësäure als Na-salz gab 0,7895 Ba SO<sub>4</sub>. Daraus berechnet sich CO-Gehalt der Uramidobenzoësäure **16,0%**.

Ich führe noch einen Versuch an, welcher zeigt, dass bei schwacher Alkaleszenz die Flüssigkeit saure Reaction annehmen kann und die Umsetzung dann unvollständig ist:

Versuch XXIII. 15 Cc. Harnfiltrat gab 0,487 Ba CO<sub>3</sub> und 0,011 Ba SO<sub>4</sub> = 0,0692 CO. 15 Cc. desselben Filtrates mit 0,288 Uramidobenzoësäure in Ammon gelöst, versetzt. Die Flüssigkeit reagierte vor dem Erhitzen schwach aber unzweifelhaft alkalisch. Die Röhre wurde 7 Stunden bei 240° erhitzt. Der Röhreninhalt reagierte nach dem Erhitzen sauer von freier Kohlensäure. Erhalten 0,5045 Ba CO<sub>3</sub> und 0,2325 Ba SO<sub>4</sub> = 0,09965 CO, also auch die Uramidosäure zu beziehen 0,03044 = **10,57%** berechnet 15,56.

Die Amidobenzoësäure selbst wird durch das Reagens nicht angegriffen.

Versuch XXIV. 0,268 Amidobenzoësäure (bei 110° getrocknet) + 1,5 Cc. der in Versuch XIII erwähnten Chlorammoniumlösung mit alkalischer Ba Cl<sub>2</sub>lösung erhitzt. Erhalten 0,0144 Ba SO<sub>4</sub>, dagegen gaben 1,044 gr. mit alkalischer Ba Cl<sub>2</sub>-lösung ohne Chlorammoniumzusatz erhitzt, reichliche Mengen Ba SO<sub>4</sub>, doch rührte dieses nur von der Einwirkung der Lösung auf das Glas her — Ammoniak war in der Flüssigkeit nicht in bestimmbarer Menge enthalten.

Versuch XXV. 15 Cc. Harnfiltrat zeigen beim Erhitzen 2,2 Cc. Alkaleszenzabnahme und geben 0,287 Ba Cl<sub>2</sub> und 0,231 Ba SO<sub>4</sub> = 0,06856 CO, 15 Cc. desselben Filtrates + 0,119 Methylhydantoin (Schmp. 158°) zeigen Acaleszenzabnahme 11,9 Cc. Davon kommen 2,2 Cc. auf das Harnfiltrat, also **9,7 Cc.** auf das Methylhydantoin zu beziehen. Die berechnete Abnahme der Alkaleszenz ist **10,25 Cc.**  $\frac{1}{10}$  Alkali. — Ferner erhalten Ba CO<sub>3</sub> 0,497 und Ba SO<sub>4</sub> 0,222 = 0,0973 CO. Differenz = 0,02876 = **10,57%** CO; berechnet **10,44%**.

Es schien mir nun noch zweckmässig, einige Versuche mit Harn unter Zusatz von Uramidosäure und Harnstoff anzustellen, um zu sehen, wie sich dabei das Verhältniss zwischen CO und  $\text{NH}_3$  gestaltet. Ich hatte beabsichtigt, zu allen Versuchen denselben Harn zu nehmen; leider misslang die Conservirung desselben.

Versuch XXVI. Hundeharn nach Fleischfütterung. Gleiche Vol. Harn, Wasser und alkalische  $\text{Ba Cl}_2$ -Lösung. 15 Cc. des Filtrates entsprechen also 5 Cc. Harn; sie sättigen 2,7 Cc.  $\frac{1}{4}$  Säure.

Röhre Nr. 1 a) Alkaleszenz 2,8 Cc.  $\frac{1}{4}$ , b)  $\text{Ba SO}_4$  0,5388, c) Ammon im Filtrat sättigt 17,55 Cc.  $\frac{1}{4}$  Säure.

Röhre Nr. 2 a) Alkaleszenz 3,1 Cc.  $\frac{1}{4}$ , b)  $\text{Ba SO}_4$  0,5252.

Röhre Nr. 3. Directe Ammonbestimmung. Das Ammon sättigt 17,65 Cc.  $\frac{1}{4}$  Säure. Nach Beendigung des Abdestillirens des  $\text{NH}_3$  wurde KHO und Wasser in den Kolben gebracht und noch  $1\frac{1}{2}$  Stunden destillirt. Eine Abnahme der Acidität der vorgelegten Säure war nicht zu constatiren.

Aus dem  $\text{Ba SO}_4$  berechnet sich CO 0,0647 und 0,0631, im Mittel 0,0644 gr. — Aus den  $\text{NH}_3$ -bestimmungen 0,0611 und 0,0618 gr., im Mittel 0,0616 gr. und hieraus Verhältniss von CO:N = 100:95,7. — Das Ammoniak ist also der Kohlensäure nicht ganz äquivalent, näherte sich indessen in anderen Versuchen mehr dem Aequivalenzverhältniss. Eine Abnahme der Alkaleszenz war, wie öfters beim Hundeharn nicht zu constatiren, im Gegentheil anscheinend sogar eine Zunahme, doch ist die Differenz zu gering, um Werth darauf zu legen.

Versuch XXVII. Derselbe Harn, wie im vorigen Versuch. 1,2295 Uramidobenzoësäure (bei 110--115° getrocknet, also ohne Krystallwasser), werden in 16 Cc. Normalnatron gelöst, auf 25 Cc. verdünnt. Dazu 25 Cc. Harn und 25 Cc. alkalischer  $\text{Ba Cl}_2$ -Lösung. Je 15 Cc. Filtrat enthalten 0,2459 Säure und 5 Cc. Harn. 15 Cc. neutralisiren 22,5 Cc.  $\frac{1}{10}$  Säure.

Röhre 1 a) Alkaleszenz nach dem Erhitzen entspricht 6,4 Cc., also Abnahme 16,1 Cc., berechnete Abnahme 13,6 Cc., b)  $\text{BaSO}_4$  0,8786 gr.

Röhre 2. Directe Ammonbestimmung. Das Ammon sättigt 23,15 Cc.  $\frac{1}{10}$  Säure.

Aus diesen Werthen berechnet sich CO 0,1056 gr.; N in Form von  $\text{NH}_3$  abgespalten 0,08103 gr. Verhältniss von CO:N = 100:76,7. Man würde also, vorausgesetzt, dass eine Kohlensäurequelle wie Zucker oder Albumin ausgeschlossen ist, durch den Versuch erfahren haben, dass der Harn ausser Harnstoff eine Uramidosäure enthält und zwar eine solche, die eine sauer reagirende Amidosaure liefert oder das Anhydrid einer Uramidosäure, deren Amidosaure neutral reagirt.

Zieht man die dem Harn entsprechenden Mengen  $\text{BaSO}_4$  und N ab, so ergibt sich, als der Uramidosäure angehörend 41,65 MgCO = 16,9% und 19,43 MgN = 7,7%. CO:N = 100:46,9.

Versuch XXVIII. 0,5526 <sup>+</sup>Ur werden zu 25 Cc. gelöst, dazu 25 Cc. Harn von XXVI und 25 alkalischer  $\text{BaCl}_2$ -Lösung = 75 Cc. 15 Cc. enthalten 0,1105 gr. zugesetzten Harnstoff, 15 Cc. sättigen vor dem Erhitzen 6,6 Cc.  $\frac{1}{10}$  Säure, nach dem Erhitzen 5,3 Abnahme 1,3 Cc. —  $\text{BaSO}_4$  erhalten 0,9678 und 0,9588 gr. Mittel 0,9633 = 0,1158 CO. Das  $\text{NH}_3$  sättigt 31,55 Cc.  $\frac{1}{10}$  Säure = 0,1104 N. CO:N = 100:95,3.

Wenn der Harn XXVI also den Harn eines Normaltages darstellte und das Gemisch XXVII resp. XXVIII den Harn des darauffolgenden Fütterungstages, so würde man sehr wohl aus dem Resultat der Untersuchung ableiten können, ob die eingegebene Amidosaure in Harnstoff oder Uramidosäure übergegangen ist. Dasselbe zeigen auch die folgende Versuche.

Versuch XXIX. Hundeharn bei Fleischfütterung. Gleiche Volumina Harn, Wasser und alkalische  $\text{BaCl}_2$ -Lösung. 15 Cc. Filtrat sättigen vor dem Erhitzen im Mittel 6,0 Cc.  $\frac{1}{10}$  Säure, nach dem Erhitzen 4,9 Cc. Abnahme 1,1 Cc.  $\frac{1}{10}$  Alkali.

Röhre Nr. 1 a)  $\text{BaSO}_4$  0,4566, b)  $\text{NH}_3$ -bestimmung im Filtrat. Das  $\text{NH}_3$  sättigt 15,55 Cc.  $\frac{1}{4}$  Säure.

Röhre Nr. 2  $\text{BaSO}_4$  0,4522 gr.

Röhre Nr. 3. Directe Ammonbestimmung; gesättigt 15,4 Cc.  $\frac{1}{4}$  Säure.

Mittel der Barytbestimmung 0,4544 = 0,0546 CO

» »  $\text{NH}_3$ -bestimmung 15,475 Cc. = 0,05416 N.

CO : N = 100 : 99,2.

Versuch XXX. 1,0758 gr. Hydantoin säure unter Zusatz von Aetznatron bis zur schwach alkalischen Reaction zu 25 Cc. gelöst. Dazu 25 Cc. Harn vom vorigen Versuch und 25 Cc. alkalische  $\text{BaCl}_2$ -lösung. 15 Cc. des Filtrates sättigen vor dem Erhitzen 6,0 Cc.  $\frac{1}{10}$  Säure, nach dem Erhitzen 3,0 Abnahme 3,0 Cc. —  $\text{BaSO}_4$  erhalten 0,9236 gr. = 0,1102 CO;  $\text{NH}_3$  sättigt 23,7 Cc.  $\frac{1}{4}$  Säure = 0,08295 N. CO : N = 100 : 74,3.

Zieht man die dem ursprünglichen Harn entsprechenden Werthe ab, so ergiebt sich für die Hydantoin säure 0,0564 CO und 0,0288 N. oder CO : N = 100 : 51,1.

Ich glaube damit Belege genug dafür gegeben zu haben, dass die so modificirte und erweiterte Bunsen'sche Methode der Harnstoffbestimmung uns in der That in den Stand setzt, Harnstoff, Uramidosäuren und deren Anhydride zu unterscheiden, auch dann, wenn die letzteren im Harn neben Harnstoff vorkommen, vorausgesetzt, dass ihre Menge nicht zu gering ist. Zugegeben muss dabei freilich werden, dass die Resultate an Schärfe der Uebereinstimmung zu wünschen übrig lassen, ein Umstand, der zum Theil in der nicht völligen Beständigkeit der Amidosäuren, zum Theil in Fehlern der Methode begründet ist.

Immer bleibt es und bliebe es selbst dann, wenn die Methoden schärfere Resultate gäben, wünschenswerth, die Substanzen, die der Organismus bildet, auch als solche darzustellen, gerade so wie man ausserhalb des Körpers die Bildung neuer Substanzen aus einem veränderten Verhalten der Lösung zur Reagentien nicht für nachgewiesen erachtet, sondern die neu entstandenen Körper zu isoliren bestrebt ist.

Für den Harnstoff ist die direkte Darstellung als salpetersaurer Harnstoff ein nicht zu unterschätzendes Beweismittel. Ist der Harn der Normalperiode sehr arm an Harnstoff, so reichen sogar qualitative Versuche aus: es genügt meistens das Verhalten des Eindampfrückstandes von je 50 Cc. Harn der Normalperiode und der Fütterungsperiode zu Salpetersäure zu vergleichen.

Während der Harn der Normalperiode eine ganz spärliche und oft erst sehr allmählig eintretende Ausscheidung von salpetersaurem Harnstoff giebt, erstarrt der Harn der Fütterungsperiode oft sofort zu einem dicken Krystallbrei. Frerichs und Wöhler haben schon vor 30 Jahren auf diese schätzbare Erleichterung hingewiesen, welche die Kaninchen bei Untersuchung über Harnstoffbildung dadurch gewähren, dass ihr Harn nur sehr geringe Mengen von Harnstoff enthält. Oft ist, wie gesagt, schon ein solcher qualitativer Versuch überzeugend; ist er es nicht, so muss man die Menge des salpetersauren Harnstoffs bestimmen. Dieses geschieht zweckmässig nicht durch Wägung, weil mit dem salpetersauren Harnstoff oft auch salpetersaure Salze ausfallen, sondern durch Titriren mit Quecksilberlösung nach Ueberführung des salpetersauren Harnstoffs in Harnstoff selbst. Hält man die Bedingungen der Fällung etc. recht genau ein, so erhält man Werthe, welche unter einander recht wohl vergleichbar sind.

Zum Nachweis der Uramidosäuren der Fettreihe habe ich meistens folgenden Weg eingeschlagen. Der Harn wird mit Bleiessig unter Vermeidung eines zu grossen Ueberschusses gefällt, das Filtrat durch  $H_2S$  entbleit,  $H_2S$  durch Auskochen entfernt. mit  $Ag_2O$  geschüttelt (man kann auch das Filtrat vom Bleiessigniederschlag direkt mit  $Ag_2O$  schütteln), Filtrat durch  $H_2S$  entsilbert, auf ein kleines Volumen eingedampft, dann zur Abscheidung der Basen mit Schwefelsäure und absolutem Alkohol versetzt. Diese Operation erfordert einige Sorgfalt und wiederholtes Probiren, um die Menge der  $SO_4H_2$  und des Alkohols richtig zu treffen. Das Filtrat von den schwefelsauren Salzen bei ganz gelinder

Wärme verdunstet,  $H_2O$  zugesetzt und längere Zeit erwärmt, bis der Geruch nach Essigsäure vollständig verschwunden, dann mit  $BaCO_3$  erwärmt, filtrirt, eingedampft, mit absolutem Alkohol gefällt. Aus normalem Harn bekommt man nur eine geringe Menge eines grösstentheils flockigen Barytniederschlags. Derselbe verkohlt auf dem Platinblech und hinterlässt bei stärkerem Glühen einen Rückstand von  $BaCO_3$ , ist in Wasser leicht löslich. Ob es sich um Spuren von Uramidosäuren als normalen Bestandtheil handelt oder um was sonst, lässt sich bis jetzt nicht sagen. Enthält der Harn eine erhebliche Quantität Uramidosäure, so wird das Baryumsalz anfangs zäh, bald fest. Die Säure selbst lässt sich aus dem Ba-Salz durch vorsichtigen Zusatz von  $SO_4H_2$  und Einengen darstellen. Sie ist durch ihr Verhalten zu alkalischer  $BaCl_2$ -Lösung charakterisirt.

Die Uramidosäuren sind bekanntlich sehr zur Anhydridbildung geneigt. Hoppe-Seyler und Baumann haben beobachtet, dass Methylhydantoinensäure beim Kochen mit  $PbO$  fast vollständig in Methylhydantoin überging<sup>1)</sup>; ich habe dieselbe Erfahrung beim Kochen mit  $Ag_2O$  gemacht.<sup>2)</sup> Man muss daher wohl daran denken, dass sich auch im Organismus Anhydride der Uramidosäure bilden könnten, das Verhalten des Harns deutet sogar darauf hin. Einen Weg zur direkten Darstellung derselben aus dem Harn habe ich nicht aufzufinden vermocht. Die Ueberführung in die Säure durch Kochen mit Barytwasser kann man nicht anwenden, da der Harn stets Reste unveränderter Amidosäuren enthält und diese bei Gegenwart von Harnstoff, wie Hoppe-Seyler und Baumann l. c. gefunden haben, in Uramidosäuren übergehen.

Die Auffindung der Uramidosäuren der Fettreihe im Harn bleibt also immer schwierig, weit günstiger liegt die Sache für die Uramidobenzoësäure und wahrscheinlich für die aromatischen Uramidosäuren überhaupt: sie lassen sich dem mit  $SO_4H_2$  angesäuerten Harn durch Schütteln mit Aether entziehen.

<sup>1)</sup> Bericht d. deutsch. chem. Gesellsch. VIII, S. 36.

<sup>2)</sup> Ebendas. S. 118.

Es ist noch die Frage zu erörtern, in wie weit sich die gewöhnliche Methode der Bestimmung des Harnstoffs durch Titrieren mit Quecksilberoxydnitrat im vorliegenden Fall anwenden lässt. Schultzen und Nencki haben wohl zuerst darauf aufmerksam gemacht, dass die Liebig'sche Methode bei Fütterungsversuchen nicht immer anwendbar ist. Sie fanden, dass der nach der Fütterung mit Acetamid entleerte Harn, welcher unverändertes Acetamid enthält, mit Quecksilberlösung fast gar keinen Niederschlag gab<sup>1)</sup>, und weiterhin, dass bei der Ausführung der Titrierung die Endreaktion sehr viel später eintrat, als dem Harnstoffgehalt entsprach und zwar fast genau dem N-Gehalt des Acetamids entsprechend, so dass die Titrierung also auch in diesem Harn den gesamten N-Gehalt anzeigte. Baumann und Mering bemerkten, dass in Sarkosin-haltigen Harnstofflösungen salpetersaures Quecksilberoxyd keinen Niederschlag hervorbringt. Dasselbe hatte ich gleichzeitig am Methylhydantoin gesehen<sup>2)</sup>.

Da mir daran lag, die Titrierung unter Umständen zu benutzen, so habe ich einige Versuche über diese Verhältnisse angestellt.

a) Einfluss der Amidosäuren.

1) Glycocoll. Harnstofflösung von ungefähr 2%. 10 Cc. erfordern 19,9 Cc. Quecksilberlösung. 1,004 gr. Glycocoll zu 40 Cc. gelöst. 10 Cc. der Lösung und 10 Cc. Harnstofflösung gemischt. Beim Einfließen der Quecksilberlösung bleibt die Flüssigkeit einige Zeit klar, allmählich tritt Trübung und geringer Niederschlag ein. Die Endreaktion tritt ein tritt ein bei 31,1, resp. 31,0 Cc. Auf das Glycocoll kommen demnach 11,15 Cc., entsprechend 0,052 N = **20,7%**, berechnet **18,7%**.

2) Sarkosin. a) 10 Cc. einer Harnstofflösung brauchen 18,65 Quecksilberlösung. 10 Cc. desselben mit 0,360 Sarkosin versetzt, brauchen 30,1 Cc., also das Sarkosin 11,45 Cc. = 0,0534 N = **14,8%**, berechnet **15,6%**.

<sup>1)</sup> Zeitschr. f. Biol. VIII, S. 145.

<sup>2)</sup> Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. VIII, S. 584.

Beim Einfließen der Quecksilberlösung anfangs nichts, dann Trübung, geringer Niederschlag.

b) 15 Cc. eines Harnfiltrates erfordern 15 Cc. Quecksilberlösung. Zu 15 Cc. 0,379 Sarkosin hinzugesetzt. Endreaction bei 26,4 Cc., daraus N-Gehalt des Sarkosins **14,04%**.

3) Alanin. Dieselbe <sup>+</sup>Ur-Lösung 0,6244 Alanin zu 40 Cc. gelöst.

a) 10 Cc. <sup>+</sup>Ur + 20 Cc. Alanin. Endreaction bei 37,4 Cc.

b) 10 Cc. <sup>+</sup>Ur + 10 Cc. Alanin. » » 28,1 Cc.

Für 20 Cc. Alaninlösung also gebraucht a) 18,75, b) 18,90 Mittel, 18,33 Cc. Daraus ergibt sich der N-Gehalt, desselben zu **27,4%** statt **15,6%**.

4) Leucin. Dieselbe Harnstofflösung.

a) 0,2622 Leucin in etwa 20 Cc. Wasser gelöst, dazu <sup>+</sup>10 Cc. Ur-lösung. Endreaction bei 28,5, also für das Leucin 9,85 Cc., entsprechend **17,9%** N.

b) 0,3440 Leucin in etwa 25 Cc. Wasser + <sup>+</sup>10 Cc. Ur. Endreaction bei 32,2 Cc. = **18,3%** N.

Im Mittel scheinbarer N-Gehalt **18,1%**, wirklicher **10,7%**.

5) Taurin. Dieselbe <sup>+</sup>Ur-lösung.

1,463 Taurin zu 40 Cc. gelöst. 10 Cc. <sup>+</sup>Ur + 20 Cc. Taurin erfordern:

a) 35,75, b) 36,10 Cc., im Mittel 35,93 Cc. = **11,2%** N, wirklicher N-Gehalt **11,20%**.

6) Asparaginsäure als Natronsalz in schwach alkalischer Lösung.

Dieselbe <sup>+</sup>Ur-lösung. 1,0398 Asparaginsäure zu 40 Cc. gelöst. 10 Cc. der beiden Lösungen gemischt. Endreaction: a) 27,1 Cc., b) 27,3 Cc., also scheinbarer N-Gehalt der Asparaginsäure. a) 15,2, b) 15,5%. Mittel **15,35%**. Wirklicher N-Gehalt **10,5%**.

Uebersieht man die Resultate der Titrirung, so erscheinen sie für die verschiedenen Amidosäuren sehr verschieden. Genau den N-Gehalt ergibt die Bestimmung nur für das Taurin, annähernd für das Sarkosin, grösser ist die Abweichung beim Glycocoll. Bei den höheren Gliedern der Reihe  $C_n H_{2n} NO_2$  stellen sich andere Verhältnisse heraus. Der N-Gehalt des Alanin erscheint als das 1,75fache des wirklichen, der N-Gehalt des Leucin als das 1,71fache. Diese Uebereinstimmung ist wohl keine zufällige; man darf wohl sagen, dass die Quecksilbertitrirung bei ihnen das  $1\frac{3}{4}$ fache des wahren Werthes ergibt. Man erfährt also durch die Titrirung bei Gegenwart von Amidosäure keineswegs immer den N-Gehalt des Harns. Bei der Asparaginsäure scheint die Bestimmung das  $1\frac{1}{2}$ fache des wirklichen Werthes zu geben.

Auch die Uramidosäuren schieben die Endreaction für Harnstoff hinaus.

1) Hydantoinsäure. a) 0,293 gr. mit  $Na_2 CO_3$   
 +  
 schwach alkalisch. Dazu 10 Cc. Ur-lösung, die für sich 19,9 Cc. Quecksilberlösung erfordern. Endreaction bei 32,6, also auf die Hydantoinsäure zu beziehen 12,7 Cc. Daraus ergibt sich N-Gehalt **20,2%**, berechnet **23,7%**.

2) Methylhydantoin. 10 Cc. Harnfiltrat erfordern 11,2 Cc. Quecksilberlösung. Dazu 0,392 Methylhydantoin (Schmp. 158°). Jetzt erfordert 21,6 Cc., also 10,4 Cc. für das Methylhydantoin = **12,3%**, berechnet **24,6%**.

3) Uramidoisäthionsaures Kali. a) 0,278 gr.  
 (wasserfrei) + 10 Cc. Ur-lösung, die für sich 18,65 Cc. Quecksilberlösung erfordern. Endreaction bei 25,7 Cc. = **11,8%** N, b) 0,4284 gr. + 10 Cc. Ur-lösung. Endreaction bei 29,5 Cc. = **11,8%** N, berechnet **13,58%**.

Wenn man aus den wenigen Bestimmungen Schlüsse machen darf, so wird also bei den Uramidosäuren annähernd

der Gesamt-N-Gehalt durch die Titrirung angezeigt, in-  
dessen mit erheblicher Differenz, bei dem Anhydrid nur die  
Hälfte, doch müssten die Verhältnisse wohl noch genauer  
untersucht werden. Jedenfalls folgt soviel aus den Ver-  
suchen, dass die Liebig'sche Methode bei Gegenwart von  
Amido- oder Uramidosäuren keinesfalls den Gehalt an Harn-  
stoff angiebt, in einzelnen Fällen den Gesamtstickstoff-  
gehalt.

Es liegt nun die Frage nahe, ob man nicht vor der  
Bestimmung die Amidosäure ausschliessen könne. Für die  
Säuren aus der Fettreihe dürfte sich schwerlich ein Ver-  
fahren hiezu ausfindig machen lassen. Bei der Amido- und  
Uramidobenzoësäure gelingt dies durch Ausfällung mit Kupfer-  
nitrat. Da ich voraussichtlich nicht wieder auf diese Frage  
zurückkomme, so mögen die Versuche an dieser Stelle Platz  
finden. Das angewendete Verfahren ist folgendes: 30 Cc.  
Harn werden mit Kupfernitratlösung ausgefällt, durch Was-  
serzusatz die Mischung auf 60 Cc. gebracht, durch ein  
trockenes Faltenfilter gegossen. Von dem bläulich gefärbten  
Filtrat werden 30 Cc. (entsprechend 15 Cc. Harn) mit 15 Cc.  
Barytmischung versetzt und filtrirt. 15 Cc. des Filtrates ent-  
sprechen 5 Cc. Harn. — Folgende Versuchsreihe diene als  
Beleg: 75 Cc. Harn werden mit ebensoviel Wasser versetzt  
(A). Andere 75 Cc. Harn mit 75 Cc. Wasser, in dem ge-  
löst ist 2,913 gr. Metamidobenzoësäure und 2,214 Uramido-  
benzoësäure, in  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  zu neutraler Reaction gelöst (B).  
Beide Mischungen nach Liebig titrirt. A erfordert jetzt  
21,50 Cc. B 28,86 Cc. (mit Correctur).

Nunmehr wird A und B in der angegebenen Weise  
behandelt. A erfordert jetzt 11,04 Cc., also 22,08 für 10 Cc.  
B 10,98 Cc., also 21,96 für 10 Cc. Harn.

Da ich auch directe N-bestimmungen ausgeführt  
habe, bin ich endlich genöthigt, auch über diese einige Worte  
zu sagen. Es fragt sich, ob man bei Gegenwart von Amido-  
säure und Uramidosäure die Natronkalkmethode anwenden

dürfe. Bekanntlich hat Makris<sup>1)</sup> vor einigen Jahren im Hoppe-Seyler'schen Laboratorium gezeigt, dass diese Methode mit bestimmten Modificationen in der Ausführung auch bei solchen Substanzen richtige Resultate liefert, bei denen sie früher für unanwendbar galt. Ein Hauptpunkt dabei ist die Beimischung einer grösseren Menge organischer Substanz. Diese scheint auch beim Harn der Hauptgrund dafür zu sein, dass die Bestimmungen nach dieser Methode auch bei Gegenwart von Amidosäure nicht so schlecht ausfallen, als man a priori erwarten sollte, (an sich ist der Gehalt des Harns an organischer Substanz in Bezug auf N zwar nicht gross, aber doch nicht unerheblich, wenn man von Ur absieht, der natürlich mit grösster Leichtigkeit den ganzen N-Gehalt als  $\text{NH}_3$  giebt.)

Versuche habe ich mit Amido- resp. Uramidobenzoësäure und Glycocoll angestellt. Zu dem ersten Versuch dienten die oben erwähnten Mischungen aus Harn und Wasser, resp. Harn und Lösung der Substanz. Das entwickelte  $\text{NH}_3$  wurde in  $\text{HCl}$  aufgefangen, abgedampft und mit Lösung von  $\text{AgNO}_3$  (30,35 gr. im Liter), von der 4 Cc. = 0,01 N. entsprechen, titirt. (Das Auffangen des  $\text{NH}_3$  in Säure würde hier ganz falsche Resultate geben, wegen der Bildung von Anilin, das keine Säure bindet.)

5 Cc. der Mischung A im Vacuum getrocknet, erforderte bei der N-bestimmung im Rohr 19,15 Cc. Ag-Lösung entsprechend 0,958%. Danach berechnet sich der N-Gehalt von B zu 1,385%. 5 Cc. von B erforderte bei der N-bestimmung 27,74 Cc. Ag-Lösung = 1,387%.

Der Glycocollversuch ist nach der Seegen'schen Methode angestellt.

35 Cc. Kaninchenharn wurden mit 15 Cc. Wasser versetzt. Die N-Bestimmung ergab 0,301 und 0,308, im Mittel also 0,3045% N. 35 Cc. desselben Harns mit 15 Cc. Wasser versetzt, das 1,0264 gr. Glycocoll gelöst enthält. Der N-Gehalt betrug somit 0,6877%. Die Bestimmung ergab 0,6755

<sup>1)</sup> Annalen d. Chem. u. Pharm. Bd. 184, S. 371.

und 0,6720%. Die Abweichung ist also sehr gering und würde für die Harnentleerung einer Periode, diese zu 400 Cc. angenommen, wenig in Betracht kommen. Allerdings muss man lange und stark erhitzen. In neuester Zeit hat auch Schröder<sup>1)</sup> einige Angaben über die Seegen'sche Methode bei Gegenwart heterogener Substanzen gemacht: Die von ihm angegebenen Zahlen zeigen etwas grössere Abweichungen. Da die absolute N-Ausscheidung für meine Versuche nur von untergeordneter Bedeutung war, so habe ich geglaubt, von weiterer Controlbestimmung absehen und die Natronkalkmethode benutzen zu können.

---

<sup>1)</sup> Diese Zeitschr. III, S. 70.